ÜBER DIE CHEMISCHE BESCHAFFENHEIT DES INTAKTEN TUMORGEWEBES IM VERGLEICH ZU DERJENIGEN DER TUMOR-NEKROSE DES JENSEN-SARKOMS UND DER NORMALEN GEWEBE DER RATTE

VERKÜRZTE FASSUNG

DER

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VON

WALTER BAUMANN

AUS BASEL

DRUCK DER SPAMER A.-G. IN LEIPZIG · 1938

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546701_0095

ÜBER DIE CHEMISCHE BESCHAFFENHEIT DES INTAKTEN TUMORGEWEBES IM VERGLEICH ZU DERJENIGEN DER TUMOR-NEKROSE DES JENSEN-SARKOMS UND DER NORMALEN GEWEBE DER RATTE

VERKÜRZTE FASSUNG

DER

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BASEL

VON

WALTER BAUMANN

AUS BASEL

DRUCK DER SPAMER A.-G. IN LEIPZIG · 1938

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *S. Edlbacher* und Dr. *P. Ruggli*.

Basel, den 21. Juni 1938.

Prof. Dr. *M. Reinhard*,
Dekan.

Herrn *Walter Baumann* wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 21. Juni 1938 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner Inaugural-Dissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

Über die chemische Beschaffenheit des intakten Tumorgewebes im Vergleich zu derjenigen der Tumor-Nekrose des Jensen-Sarkoms und der normalen Gewebe der Ratte

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Separatabdruck aus der „Zeitschrift für Krebsforschung"
Bd. 44, H. 6, S. 441, 1936; Bd. 47, H. 2, S. 191 und 198, 1938
(Verlag von Julius Springer in Berlin W 9)
Printed in Germany

Der Glykogen- und der Amylasegehalt in Tumor und Nekrose des Jensen-Sarkoms der Ratte.

Mit 1 Textabbildung.

Schon frühzeitig wurde der hohe Glykogengehalt des Carcinomgewebes von vielen Autoren histologisch und chemisch festgestellt. *Bernhardt*[1], der bei einer sehr großen Zahl von gut- und bösartigen Tumoren eine vergleichende Untersuchung anstellte, konnte zeigen, daß bösartige Geschwülste eine ungefähr 10mal so große Glykogenmenge aufweisen wie gutartige. Auch embryonales Gewebe hat einen relativ hohen Glykogengehalt.

Im Verlaufe unserer vergleichenden Arbeiten über Tumor und Nekrose des *Jensen*-Sarkoms der Ratte war es daher von Interesse, die Verhältnisse auch in bezug auf den Glykogengehalt klarzulegen. Und es zeigte sich, daß sowohl im intakten Tumorgewebe als auch im nekrotischen Teil *nur Spuren oder kein Glykogen nachgewiesen werden konnte*, während dagegen das umliegende Muskelgewebe einen normalen Glykogengehalt aufwies. Der Glykogenreichtum ist nicht allen Geschwülsten eigen. So kann bei menschlichen Mammacarcinomen Glykogen selten nachgewiesen werden[2], und beim Portiocarcinom ist die Glykogenfreiheit so charakteristisch[3], daß diese Tatsache zur Frühdiagnostik verwendet werden kann. Zu erwähnen sind auch noch die Beobachtungen von *Purjesz* und *Lajos*[4], die bei *Jensen*-Sarkomratten ein Absinken des Blutzuckergehaltes bei gleichzeitiger Abnahme des Leberglykogens feststellen konnten. *Cori* und *Cori*[5] fanden bei Mäuse- und Rattensarkomen eine starke Erniedrigung des Glykogen- und Glucosegehaltes des Tumorgewebes gegenüber dem normalen Gewebe, und es wurde auch eine Erniedrigung des Blutzuckerspiegels festgestellt.

Da beim *Jensen*-Sarkom wie gesagt nur wenig Glykogen gefunden werden konnte, wäre evtl. zu vermuten gewesen, daß vielleicht eine postmortal rasch einsetzende Enzymwirkung die Ursache des niedrigen Glykogengehaltes sein könnte. Um diese Wirkung auszuschalten, wurden die zu untersuchenden Organe sofort nach dem Töten des Tieres (innerhalb 25—30 Sekunden) in Kohlensäureschnee gebracht und im gefrorenen Zustand weiter verarbeitet. Es konnte aber kein

Unterschied gegenüber der normalen Verarbeitung festgestellt werden. Auch die histologische Untersuchung (ausgeführt von Herrn Dr. *P. Jucker*, Assistent der med. Universitätsklinik Basel), zeigte ein vollständiges Fehlen von Glykogen*.

Über den Gehalt der Tumoren an diastatischen Fermenten liegen keine einheitlichen Befunde vor. So konnte *Somekawa*[6] im *Rous*-Sarkom einen reichen Gehalt an Diastase und Glykogenolyse feststellen. Zum gleichen Ergebnisse kamen auch *Scharles*, *Robb* und *Salter*[7], die fermentkinetische Studien der Amylase des Mäusesarkoms ausführten. *Achard* und *Clare*[8], *De Niord* und *Schreiner*[9] und vor allem *Turreen*[10], die bei einer sehr großen Anzahl menschlicher Tumorkranken den Blutamylasegehalt bestimmten, konnten zeigen, daß beim tumorkranken Organismus die Blutamylase nicht charakteristisch verändert ist, so daß eine diagnostische Auswertung dieser Befunde nicht in Frage kommt. *Sure* und Mitarbeiter[11] fanden, auch bei Ratten mit *Walker*-Carcinomen, eine 50proz. Verminderung der Serumamylase.

Wie aus Oben stehendem hervorgeht, fehlt also merkwürdigerweise im *Jensen*-Sarkom das Glykogen fast vollständig. Es war deshalb von Interesse zu untersuchen, ob das glykogenspaltende Enzym, die Amylase, dementsprechend ebenfalls fehlen würde. Bei der Untersuchung von Sarkom und Nekrose konnte nun aber in beiden Teilen *eine stark wirksame Amylase nachgewiesen werden*, während, wie zu erwarten war, im umliegenden Muskelgewebe die Abwesenheit der Amylase konstatiert wurde.

Das Fehlen des Glykogens und das Auftreten des glykogenspaltenden Enzyms zeigte deutlich die grundsätzlich andere Richtung des Kohlehydratstoffwechsels im malignen Gewebe gegenüber dem des Muskels, wie sie ja auch durch die bekannten Untersuchungen über Atmung und Glykolyse ermittelt wurden. Es wird von Interesse sein, die hier mitgeteilten Befunde mit dem letzterwähnten Tatsachenkomplex zu einem einheitlichen Bilde zu vereinigen. Dies ganz besonders im Hinblick auf die jüngsten Mitteilungen von *von Euler* und seinen Mitarbeitern[12], die sich ausführlich mit der Frage des Kohlehydratabbaues im *Jensen*-Sarkom beschäftigen und aus dem hervorgeht, daß im Tumor kein phosphorylierungsfreier Glucoseabbau anzunehmen ist. Es würde aber den Rahmen dieser Abhandlung weit überschreiten, jetzt schon auf die Zusammenhänge einzugehen, die zwischen dem Auftreten der Amylase und dem Kohlehydratstoffwechsel der Tumoren bestehen. Darum beschränken wir uns zunächst auf die hier wiedergegebene engere Darstellung des Problems.

* Wir möchten dem Genannten an dieser Stelle für die Durchführung der Untersuchung unseren besten Dank aussprechen.

Methodik.

a) Glykogenbestimmung.

1. *Entnahme des Organmaterials.* *Jensen*-Sarkomratten wurden durch Nackenschlag getötet, ausgeblutet und in den bis zu 100 g schweren Geschwülsten auf der eisgekühlten Glasplatte sofort das intakte Tumorgewebe vom nekrotischen getrennt. Ein Teil des Gewebes wurde sofort in Kohlensäureschnee geworfen und erst dann weiter verarbeitet, um eine Fermentwirkung zu verhindern. Es zeigte sich allerdings kein Unterschied gegen die Verarbeitung auf der Eisplatte.

2. *Glykogenbestimmung.* Als schnelle und besonders zuverlässige Methode erwies sich ein modifiziertes Verfahren der alten *Pflüger*schen Methode (*Oppenheimer*, Fermente Band 3) von *Good-Kramer* und *Somogyi*[13], das wir unseren Zwecken entsprechend vereinfachten.

In ein Jenaer-Zentrifugenglas (Inhalt etwa 30 ccm) kommen 2 ccm 30proz. Kalilauge; etwa 0,1—1,0 g Organ werden sofort nach der Entnahme in die Lauge gebracht, und die Lauge so ergänzt, daß auf 1 g Organ je 2 ccm Kalilauge kommen. Nun werden im siedenden Wasserbad die mit Steigrohr versehenen Gläschen etwa 15—20 Minuten erhitzt, bis das Gewebe vollständig aufgelöst ist. Man gibt 1,3 Volumen 96proz. Alkohol (auf das Gesamtvolumen bezogen) zu, kocht kurz auf und läßt langsam auf Zimmertemperatur abkühlen. Nun wird zentrifugiert, die überstehende Lösung weggesaugt und der Niederschlag auf der Zentrifuge mit Alkohol ausgewaschen, nochmals zentrifugiert, Alkohol abgegossen und der restliche Alkohol auf dem Wasserbad verjagt. Das Glykogen wird in dem mit Steigerohr versehenen Zentrifugenglas mit 10 ccm 3,5proz. Salzsäure 2—3 Stunden im Wasserbad hydrolysiert. Die Zuckerbestimmung erfolgt nach *Bertrand-Michaelis* (die erforderlichen Lösungen siehe *Oppenheimer*, Fermente Band 3), das Hydrolysat wird mit etwa 2 ccm 5 n-NaOH gegen Lackmus neutralisiert. Nun werden 0,7 ccm *Bertrand*sche Seignettesalzlösung und 0,5 ccm der Kupfersulfatlösung zugesetzt. Man erhitzt die mit Steigerohr versehenen Gläschen zunächst auf dem Wasserbad und dann im Paraffinbad (bei 120°) bis zum Sieden (Siedesteinchen aus porösem Ton) und hält die Flüssigkeit 3—4 Minuten im schwachen Sieden. Nach dem Abkühlen mit kaltem Wasser wird kurz zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird abgehebert bis auf 2 ccm, nun nochmals zentrifugiert und jetzt wird die Flüssigkeit vorsichtig vom Niederschlag abgegossen. Der Niederschlag von rotbraunem Cuprooxyd wird mit 1—2 ccm Ferrisulfatlösung versetzt und durch leichtes Umschwenken in Lösung gebracht, und sofort mit einer frisch hergestellten $^{n}/_{100}$-Permanganatlösung aus einer Mikrobürette titriert. Nähere Angaben, besonders über die Ausführung der Titration und über die Berechnung sind aus der Originalliteratur zu ersehen.

Es wird durch diesen Arbeitsgang erreicht, daß alle Manipulationen im gleichen Gefäße ausgeführt werden können.

3. *Versuchsresultate.* Es wurden 30 *Jensen*-Sarkomratten auf ihren Glykogengehalt untersucht.

Muskel: Glykogenwerte im Mittel 0,6—0,8% bezogen auf Frischgew.

Tumor: Glykogenwerte im Maximum 0,00—0,05 bez. auf Frischgew.

Nekrose: Glykogenwerte im Maximum 0,00—0,035 bez. auf Frischgew.

Andere Kohlehydrate, Mono- und Disaccharide konnten nicht sicher nachgewiesen werden.

b) Amylasebestimmung.

1. *Herstellung der Enzymlösung:* Die frisch getöteten Tieren entnommenen *Jensen*-Sarkome wurden, wie gewohnt, in intaktes Tumorgewebe und Nekrose auf der eisgekühlten Glasplatte getrennt und gewogen. Die Leber wurde herausgenommen und zwischen Filterpapier so gut wie möglich vom Blut befreit, und das Gewicht ermittelt. Die Organe wurden sorgfältig und längere Zeit mit gekörntem Quarz unter entsprechenden (d. h. 5- oder 10- oder 20fachen) Mengen destillierten Wasser zerrieben; koliert und 10 Minuten lang zentrifugiert. Bei 0° aufbewahrt ist der wässerige milchartige Extrakt ohne Aktivitätsverlust etwa 1 Woche lang haltbar.

2. *Bestimmungsmethode:* Als Substrat wurden reine Stärke oder reines Glykogen (Kaninchen) verwendet. Es wurde die Zunahme der Reduktionswirkung der aus dem Glykogen entstandenen Glucose nach der Jodtitration von *Willstätter* und *Schudel* bestimmt (siehe *Rona*, Praktikum I, 191 (1931)].

3. p_H-*Optimum der Leber und der Tumoramylase:* Extrakte: wässerig 1:10. Spaltungszeit 2 Stunden, T = 38°

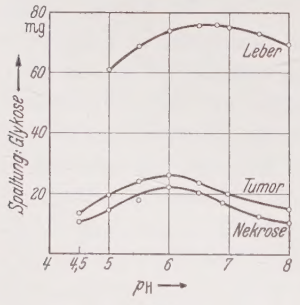

Abb. 1.

4. *Schema eines Versuchsansatzes:* 10 ccm Enzym 1:10 oder 1:20, 10 ccm Puffer (verschiedenes p_H, Phosphat oder Citrat nach *Sörensen*). 5 ccm 1proz. Glykogenlösung, 0,75 ccm 0,2 n-Natriumchloridlösung, 1 ccm Toluol werden in einem weiten Reagensglas aus Jenaerglas im Thermostaten bei 38° 1—2 Stunden lang gespalten. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde vor Beginn und nach dem Ende der Spaltung kolorimetrisch kontrolliert.

Nun wird durch Zugabe von $^1/_3$ Volumen gesättigter Natriumsulfatlösung und 0,5 ccm n-Essigsäure pro 20 ccm Lösung die Spaltung unterbrochen und durch Einstellen in heißes Wasser enteiweißt und 10—15 Minuten im siedenden Wasserbad gelassen, durch ein kleines

Faltenfilter in einen 100 ccm-Erlenmeyer heiß filtriert. Das Reagensglas und das Filterchen werden mit einigen Kubikzentimeter einer Mischung von 33 ccm gesättigter Natriumsulfatlösung mit 65 ccm Wasser und 2,5 ccm n-Essigsäure ausgewaschen. In der erkalteten Lösung wird nun nach der Jodtitration von *Willstätter* und *Schudel* ($^{n}/_{10}$- bzw. $^{n}/_{20}$-Jodlösung) die Zunahme der Reduktionswirkung bestimmt. Die p_H-Optimumkurven sind Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen.

5. *Leberamylase* wurde zur Kontrolle und zum Vergleich mit der Tumor- und Nekroseamylase ausgeführt. Das Optimum der Leberamylase liegt bei p_H 6,8. Es konnte kein Unterschied in der Wirkung der Leberamylase der Tumorratten und der Normalratten beobachtet werden; auch das Wirkungsoptimum ist nicht verändert.

6. *Tumor- und Nekroseamylase.* Zwischen der Tumor- und Nekroseamylasewirkung ist kaum ein Unterschied festzustellen; die Wirkung der Nekroseamylase ist nur sehr wenig etwa 20—30% gegen die Tumoranalyse erniedrigt. Die Amylasewirkung beträgt aber nur 25 bis 30% der Leberamylase und die optimale Wirkung ist nicht sehr ausgesprochen und liegt zwischen p_H 5 und p_H 7 mit einem Maximum bei p_H 6,1.

Unsere Befunde decken sich mit dem Ergebnis der Untersuchungen, die *Scharles*, *Robb* und *Salter*[7] am Mäusesarkom angestellt haben. Sie verwendeten einen wässerigen Extrakt 1:1 und fanden gegen Glykogen eine optimale Spaltung zwischen p_H 4,5 und 6,5 mit dem Maximum p_H 6,2.

7. *Maltase.* Die Tumor- und Nekroseextrakte wiesen, wie zu erwarten war, eine kräftige Maltasewirkung bei einem optimalen p_H von 6,2 auf. Als Substrat wurde an Stelle des Glykogens reine Maltose verwendet, und die Zunahme der Reduktionswirkung nach *Willstätter* und *Schudel* bestimmt.

8. *Dialyseversuche.* 10 g Tumorgewebe wurden wie beschrieben, sorgfältig mit Quarz und der 10fachen Menge Wasser zerrieben, koliert und zentrifugiert. Die Enzymlösung wird in 2 Teile geteilt:

Teil I: Wird bei 0° und unter Toluol aufbewahrt und dient als Kontrollösung beim Dialyseversuch.

Teil II: Wird 72—96 Stunden lang unter Eiskühlung unter Toluol in einem Rühr-Dialysierapparat mit einer *Schleicher-* und *Schüll*schen Hülse dialysiert. Als Gefäß diente eine große Thermosflasche. Das die Membran umgebende Eiswasser mit feinen Eisstückchen (Eis aus destilliertem Wasser) wird zuerst alle 2—4 Stunden und dann alle 12 Stunden erneuert, so daß im Verlaufe der Dialyse etwa 12 l destilliertes Wasser verwendet wurden. Während der ganzen Dialysedauer stieg die Wassertemperatur nicht über 0°. Nach 72 bzw. 96 Stunden wurde eine kleine Probe des Dialysats enteiweißt (mit $^{1}/_{3}$ gesättigter Natriumsulfatlösung

und einigen Tropfen n-Essigsäure) und damit folgende Reaktionen ausgeführt:

Biuret: Spur. Phosphat: Spur. Chlorid: —.

Wurden diese Bedingungen erfüllt, so war die Dialyse beendet.

9. *Schema eines Versuches.* 17 g absolut nekrosefreies Tumorgewebe wurden mit 170 ccm Wasser und Quarz sorgfältig zerrieben, koliert, zentrifugiert und ergaben etwa 150 ccm Tumorextrakt 1:10. Davon wurden je 75 ccm zur Kontrolle und zur Dialyse verwendet. Dauer der Dialyse 100 Stunden bei 0°. Eine kleine Probe enteiweist und durch ein Faltenfilter filtriert, ergab folgende Reaktionen: Biuret: Spur, Chlorid: —, Phosphat: —.

Ansatz: 10 ccm Phosphatpuffer nach Soerensen p_H 6,1 und 6,8 oder Citratpuffer nach *Soerensen* p_H 6,1 und 6,8.

2 ccm 1proz. Glykogenlösung.

5 ccm Enzymlösung dialysiert und nicht dialysiert.

2 ccm Muskelkochsaft: 20 g Rattenmuskel mit 100 ccm destilliertem Wasser ausgekocht.

1 ccm 0,1 n-Natriumchloridlösung.

Alle Ansätze wurden mit destilliertem Wasser auf das gleiche Volumen gebracht.

Versuchsschema.

a) *ohne Puffer:* (an Stelle der Pufferlösung wurde die entsprechende Menge destilliertes Wasser zugegeben).

Glykogen allein.

Glykogen und Muskelkochsaft und Natriumchloridzusatz.

Enzym allein	Enzym nicht dialysiert
Enzym und Glykogen	
Enzym und Glykogen und NaCl-Zusatz	
Enzym und Glykogen und NaCl-Zusatz und Muskelkochsaft	
Enzym allein	Enzym dialysiert
Enzym und Glykogen	
Enzym und Glykogen und NaCl-Zusatz	
Enzym und Glykogen und NaCl-Zusatz und Muskelkochsaft	

b) *mit Phosphatpuffer:* Versuchsansätze wie oben.

c) *mit Citratpuffer:* Versuchsansätze wie oben.

Spaltungszeit im Thermostaten bei 38° 3 Stunden.

10. *Zusammenstellung der Resultate.* Spaltung des Enzyms nach Abzug der Leerwerte in ccm $^n/_{50}$-Jodlösung (siehe Tabelle S. 197).

Wie zu erwarten war, geht durch die Dialyse die Amylaseaktivität zurück, und zwar vermindert sie sich um 30%. Die restliche Spaltung von 70% läßt sich durch fortgesetzte Dialyse nicht mehr unterdrücken.

	Wasser		Phosphatpuffer		Citratpuffer	
	Nicht-dialys.	Dialys.	Nicht-dialys.	Dialys.	Nicht-dialys.	Dialys.
a) Spaltung bei einem p_H von 6,1.						
Enzym + Glykogen + Muskelkochsaft ohne NaCl-Zusatz	1,4	0,9	1,4	1,7	1,1	1,3
Enzym + Glykogen + NaCl-Zusatz	2,5	2,1	1,9	2,3	2,2	2,1
Enzym + Glykogen allein ohne Zusätze	2,6	1,8	2,5	1,8	2,5	1,7
b) Spaltung bei einem p_H von 6,8.						
Enzym + Glykogen + Muskelkochsaft ohne NaCl-Zusatz	1,5	0,8	1,1	1,5	1,2	1,3
Enzym + Glykogen + NaCl-Zusatz ohne Muskelkochsaft	2,3	1,4	2,2	2,9	2,8	1,9

Welche Vorgänge sich in diesen ausdialysierten Lösungen abspielen, kann auf Grund der bisherigen Beobachtung nicht beantwortet werden. Da beim nachträglichen Zusatz von Phosphat (und auch Zusatz von Magnesiumsalzen) die Spaltung wieder zunahm, wäre vielleicht daran zu denken, daß es sich um einen Vorgang handelt, der in Analogie zu setzen ist mit der von *Parnass* im Muskel beobachteten Phosphorolyse. Die von uns durchgeführten Versuche bilden aber noch durchaus keinen Beweis für die Richtigkeit einer derartigen Annahme.

Zusammenfassung.

1. Es wird das *Jensen*-Sarkom und sein nekrotisierter Anteil auf den Gehalt an Glykogen untersucht und gezeigt, daß dieser Stoff nur in minimalen Spuren vorkommt.

2. Sowohl das Sarkomgewebe als auch das Nekrosegewebe enthalten überraschenderweise eine stark wirksame Amylase.

Literaturverzeichnis.

[1] *Bernhardt*, Z. klin. Med. **98**, 50 (1924) — Klin. Wschr. **7**, 1184 (1927). — [2] *Sokoloff*, C. r. Soc. Biol. Paris **89**, 628 (1923). — [3] *Schiller*, Virchows Arch. **263**, H. 2 (1927) — Arch. Gynäk. **133**, H. 2 (1928) — Zbl. Gynäk. **51**, H. 30 (1928) — Wien. klin. Wschr. **44**, H. 49 (1931) — Lancet **230**, 1228 (1936). — [4] *Purjesz* u. *Lajos*, Z. Krebsforsch. **43**, 280 (1936). — [5] *Cori* u. *Cori*, J. of biol. Chem. **64**, 11 (1925). — [6] *Somekawa*, Sci. paper Inst. Physic. u. Chem. Res. **18**, 23 (1932); zit. Ronas Ber. **67**, 51 (1933). — [7] *Scharles*, *Robb* u. *Salter*, Amer. J. Canc. **20**, 613, 625 (1934); **23**, 322 (1935). — [8] *Achard* u. *Clare*, C. r. Soc. Biol. Paris **53**, 708 (1901). — [9] *De Niord* u. *Schreiner*, Arch. int. Med. **23**, 484 (1919). — [10] *Turreen*, Arch. of. Path. **15**, 834 (1933); zit. Z. Krebsforsch. **40**, 93 (1934). — [11] *Sure*, *Kik*, *Buchanan*, *Thatcher* u. *Groat*, Biochemic. J. **29**, 1508 (1935). — [12] *v. Euler*, *H.*, u. Mitarbeiter, Naturwiss. **25**, 269 (1937); **26**, 11 (1938) — Hoppe-Seylers Z. **247**, 65 (1937). — [13] *Good-Kramer* u. *Somogyi*, J. of biol. Chem. **100**, 485 (1933).

Der Tryptophangehalt des Jensen-Sarkoms und der Nekrose.

Im Anschluß an unsere Arbeiten über „den Hexonbasengehalt des *Jensen*-Sarkoms und der Nekrose“[1] war es von großem Interesse, zu untersuchen, wie sich die anderen wichtigen Bausteine der Eiweißkörper verhalten. Eine weitere lebenswichtige Aminosäure ist das Tryptophan; aber auch hier zeigten Tumor und Nekrosegewebe den gleichen Tryptophangehalt. Dieser Befund konnte uns aber kaum noch überraschen, da auf Grund unserer obengenannten Arbeit auch bei den übrigen Eiweißbausteinen eine Übereinstimmung der Tumorwerte mit der Nekrose erwartet werden konnte. Bemerkenswert ist die Feststellung, daß der Tryptophangehalt der Organe der Sarkomratte gleich ist dem der Organe des normalen Tieres.

„Bezüglich des *Tryptophangehaltes* ist zu bemerken, daß hier anscheinend *kein einheitliches Verhalten* verschiedener Tumoren vorliegt. Während in Hautcarcinomen und auch in Lebermetastasen eine Vermehrung der genannten Aminosäure konstatiert wurde, zeigten Mammacarcinome ein völliges Fehlen dieses Eiweißbausteines; die in früheren Untersuchungen beobachtete Tryptophanverminderung auch in Hautgeschwülsten soll auf Verwendung von nicht geeignet konserviertem Material zurückzuführen sein. In neuester Zeit vorgenommene Untersuchungen über den Tryptophan- und Tyrosingehalt von Carcinomen der Gallenwege und auch von Lebermetastasen ließen in dieser Hinsicht keine charakteristische Abweichung von der Norm bzw. vom umgebenden Mutterboden erkennen; hingegen wiesen Melanosarkommetastasen der Leber annähernd normale Verhältnisse des Tyrosingehaltes bei einer hochgradigen Verminderung des Tryptophan auf (0,6 bis 1,5% gegen 2,2—3,3% der Norm). Dieser Befund wird damit erklärt, daß Tryptophan und nicht das Tyrosin als Muttersubstanz der melanotischen Tumorpigmente anzusehen ist, eine Auffassung, die schon früher vertreten wurde.“*

Da weder das wachsende noch das nekrotisierende Sarkomgewebe sich in bezug auf den Gehalt an Hexonbasen und Tryptophan vom normalen Gewebe wesentlich unterschied, kann demnach im Gehalt der Eiweißkörper an den genannten Aminosäuren kein Merkmal der Malignität gefunden werden. Die früher in zahlreichen Arbeiten schon von dem einen von uns (*Edlbacher*[2]) nachgewiesene starke Arginasespaltung aller wachsenden Gewebe, findet also nicht durch einen erhöhten Arginingehalt der Gewebe ihre Erklärung. *Die eigentümliche Verschiebung von chemischen Bausteinen, wie sie während des Heranreifens des Jensen-*

* Zitat aus *Willheim* und *Stern*, Die Wege und Ergebnisse chemischer Krebsforschung.

Sarkoms bezüglich der Purine von S. Edlbacher und P. Jucker[3] *festgestellt wurde, ist bei den basischen Aminosäuren und beim Tryptophan nicht zu beobachten.* Während der Tumor reich an Purinen ist und die Organe mit Purinen überschwemmt sind, ist wie gesagt der Hexonbasen- und Tryptophangehalt in allen untersuchten Organen des Tumortieres normal. Wenn man annimmt, daß in den Zellkernen des *Jensen*-Sarkoms das Eiweiß als histonartiges Protein an die Nucleinsäure gebunden ist, so sind unsere Befunde in der folgenden Weise zu erklären:

Der tumorkranke Organismus besitzt nicht die Fähigkeit, die durch den starken Zellkernzerfall auftretenden Purine zu bewältigen. Es kommt deshalb zu einer Speicherung dieser Stoffe in den Organzellen. Im Gegensatz dazu ist die enzymatische Ausrüstung der Sarkomzellen und Organzellen genügend, um die durch den Zellkernzerfall zur Disposition gestellten Aminosäuren einem normalen Abbau zuzuführen. Dieser Aminosäureabbau kann sogar, wie im Falle des Arginins schon früher erwähnt wurde, über der Norm liegen.

Es sei in diesem Zusammenhang auf die wichtigen Untersuchungen von *E. Abderhalden* und Mitarbeiter[4] hingewiesen. Sie nehmen an, daß die Proteine einer Zellart immer eine konstante Zusammensetzung haben müssen, denn sonst würde der Organismus den Zellstoffwechsel nicht beherrschen. Im gleichen Sinne bewegen sich die Untersuchungen von *I. Murray Luck*[5] über das Problem der Speicherung der Proteine im tierischen Organismus.

Daß aber grundsätzliche Änderungen des Stoffwechsels trotzdem im tumorkranken Organismus bestehen, konnten *S. Edlbacher* und *M. Neber*[6] am Sinken der Lipasewerte der Organe der Tumorratte feststellen, und außerdem konnten verschiedene Autoren die Erhöhung der proteolytischen Werte in den Organen der Sarkomtiere beobachten. Von diesen zahlreichen Arbeiten erwähnen wir in diesem Zusammenhang nur die von *Waldschmidt-Leitz*, *Purr* und von *Maschmann*[7] (siehe dort auch die übrige Literatur). Besonders der letztgenannte Autor bringt in der zitierten Publikation eine Übersicht über die proteolytische Leistung der Organe des Tumortieres und zeigt, daß tatsächlich im Laufe der Entwicklung des Tumors in Leber und Milz besonders die Kathepsinaktivität zunimmt, während gleichzeitig die Menge des Tumorkathepsins abnimmt, wobei sich die nekrotischen Partien erheblich kathepsinärmer erwiesen als das intakte Tumorgewebe. Wir haben diese Untersuchungen ebenfalls durchgeführt und kommen unabhängig von *Maschmann* zu dem gleichen Resultat (vgl. auch *A. Purr* [l. c.]). Untersucht man den Kathepsingehalt der Organe (Leber, Milz) im Laufe der Entwicklung des Tumors, so findet man ein stetiges Ansteigen der Kathepsinaktivität in der Leber, so daß diejenigen Tiere, welche im letzten Lebensstadium sind, ungefähr 30—50% mehr

Kathepsinaktivität aufweisen als am Anfang. In einzelnen Fällen kann kurz vor dem Tode des Tumortieres (besonders beim Durchbrechen des Tumors) eine Abnahme der Kathepsinaktivität festgestellt werden. *Waldschmidt-Leitz* sucht dieses Phänomen in der folgenden Weise zu erklären, daß es sich hier nur um einen besonderen Aktivierungszustand (durch leichtere Eluierbarkeit des Kathepsinaktivators) des Enzyms handeln könnte, ohne daß dabei die absolute Enzymmenge zugenommen hat. Diese Deutung konnte aber von *Maschmann* und anderen Autoren (l. c.) nicht bestätigt werden; eine sichere Entscheidung dieser Teilfrage ist heute noch nicht zu geben. *Fest steht aber auf jeden Fall, daß die proteolytische Leistung des Organs während der Tumorentwicklung zunimmt.* Wir haben in zahlreichen Versuchen mittels der Methode von *Linderström-Lang*[8] diese Verhältnisse untersucht und können die Befunde von *Maschmann* und der anderen Autoren voll und ganz bestätigen. Da diese Versuche nichts weiter sind als eine Überprüfung, verzichten wir auf ihre Wiedergabe.

Methodischer Teil.

I. Die kolorimetrische Tryptophanbestimmung.

Es war für uns wichtig, aus den vielen Tryptophanbestimmungsmethoden eine gute, besonders für unsere Zwecke geeignete Methode zu finden. Am besten bewährten sich die folgenden 2 Verfahren:

1. Die auf der *Voisenet*-Reaktion beruhende Methode von *O. von Fürth* und Mitarbeiter[9].
2. Die Methode von *Tillmans*[10].

Da diese Methoden in erster Linie zur Tryptophanbestimmung in reinen Proteinen dienten und bei deren Anwendung auf Organeiweiß oft erhebliche Schwierigkeiten zeigten, möchten wir an dieser Stelle die Bedingungen kurz erwähnen, bei denen wir die besten Resultate erhalten haben.

1. *Die Tryptophanbestimmung nach Fürth-Lieben mit der Voisenet-Reaktion.* 2 ccm der Protein- oder Organlösung werden in ein graduiertes Reagensglas (20 ccm Inhalt) pipettiert und mit einem Tropfen einer frischen 2,0proz. Formaldehydlösung versetzt und umgeschüttelt. Nun werden etwa 15 ccm reine konzentrierte Salzsäure (d = 1,16) zugefügt und mit einem am Ende breitgedrückten Glasstabe gut durchgemischt. Nach 10 Minuten erfolgt Zusatz von 4—12 Tropfen 0,05proz. Natriumnitritlösung (immer frisch bereiten!); die Menge des Natriumnitritzusatzes richtet sich nach dem Tryptophangehalt, und es ist durch Vorversuche die jeweilige Menge Natriumnitrit festzustellen, die maximalste Farbintensität ergibt. Nun füllt man mit konzentrierter Salzsäure auf 20 ccm auf. Nach weiteren 10 Minuten werden die rotvio-

letten Lösungen gegen Caseinlösungen mit bekanntem Tryptophangehalt im *Dubosq*-Colorimeter ausgewertet (nähere Angaben in den Originalarbeiten von *O. von Fürth* l. c.). Die Genauigkeit der Reaktion beträgt im Mittel $\pm 4\%$ bei Einhaltung gleicher Bedingungen.

2. *Der Einfluß der Formaldehydmenge bei der Fürth-Lieben-Bestimmung.* Wir verwendeten einheitlich bei unseren Versuchen die von *O. von Fürth* in seiner Originalarbeit angegebene Menge von einem Tropfen 2,0% Formaldehydlösung pro Probe. *S. Rapoport* und *W. Eichinger*[11], die eine Ergänzung und Überprüfung der *Fürth-Lieben*-Bestimmung vornahmen, fanden aber, daß sich durch bedeutend geringere Formaldehydmengen eine viel stärkere und reinere Farbe erzielen läßt; außerdem hat sie den Vorteil, länger haltbar zu sein. Das Maximum der Farbstärke war schon mit einem Tropfen 0,4proz. Formaldehyd erreicht; größere Formaldehydmengen verursachten einen rötlichen Farbton. Dieses Verhalten konnte aber nur bei reinem Tryptophan und *bei Casein, nicht aber bei anderen Proteiden beobachtet werden.* Da es sich aber bei unseren Versuchen um Vergleiche zwischen Organeiweiß und Casein handelt, zogen wir es vor, die Colorimetrie einheitlich mit einem Tropfen 2proz. Formaldehydlösung durchzuführen.

3. *Die Tryptophanbestimmungsmethode von Tillmans* (verbesserte Vorschrift nach *Th. Rümele*[12]). 2 ccm Standardlösung (z. B. 0,1proz. alkoholische Tryptophanlösung) oder 2 ccm alkalische Eiweißlösung werden in einem graduierten Reagensglas (25 ccm Inhalt) mit 2 Tropfen einer 2proz. Formaldehydlösung versetzt. Nun werden 8 ccm destilliertes Wasser zugegeben und umgeschüttelt, dann gibt man unter Abkühlen langsam 66 gewichtsprozentige chemisch reine Schwefelsäure zu bis zur 25 Zentimetermarke und mischt mit einem Glasstab gut durch. Man läßt die weingelbe Farbe $^3/_4$ Stunde im Dunkeln entwickeln.

Nachteile. Die weingelbe Farbe ist nicht sehr gut colorimetrierbar.

4. *Standardlösungen.* Als Vergleichslösungen für sämtliche Tryptophanbestimmungen wurden alkalische Caseinlösungen verwendet.

Herstellung des Caseinstandards: Casein nach *Hammarsten* wird im Vakuum bei 60° mehrere Stunden getrocknet. 5 g bzw. 10 g getrocknetes Casein (1- bzw. 2proz. Caseinlösung) wird in etwa 300 ccm Wasser suspendiert und 0,26 g bzw. 0,51 g festes Kaliumhydroxyd hinzugefügt und kalt bis zur vollständigen Lösung geschüttelt und auf 500 ccm aufgefüllt; oder aber einfacher 1 g Casein benötigt 9 ccm $^n/_{10}$-NaOH und Wasser zur Lösung.

5. *Der Tryptophangehalt des Caseinstandards.* a) bei Anwendung von 2proz. Formaldehydlösung: *O. von Fürth* findet in einer früheren Arbeit als Mittelwert einen Tryptophangehalt des *Hammarsten*-Caseins von 1,7%; in einer späteren Arbeit jedoch dient der Gehalt von 1,87%

als Grundlage zur Berechnung. In einer privaten Mitteilung teilt uns Herr Prof. *von Fürth* mit, daß er in unveröffentlichten Versuchen von *von Fürth* und *Rapoport* einen Gehalt von 2,12% Tryptophan der Berechnung zugrunde gelegt hat. *F. Böhm* und *G. Grüner*[13] finden bei der Auswertung im Stufenphotometer einen Gehalt von 2,06% Tryptophan im Casein *Hammarsten*. Unser Caseinstandard ergab bei der Auswertung im *Dubosq*-Colorimeter gegen reine Tryptophanlösungen 2,0% als Mittelwert. Als Grundlage zur Berechnung diente uns aber der Tryptophangehalt des Caseins von 2,1%, da dieser stufenphotometrisch ermittelte Wert wesentlich zuverlässiger ist*.

b) Bei Anwendung von 0,4proz. Formaldehydlösung: Bei der Auswertung im *Dubosq*-Colorimeter fanden *S. Rapoport* und *W. Eichinger* einen Tryptophangehalt des *Hammarsten*-Caseins von 3,27%, während die gleiche Probe mit 2proz. Formaldehydlösung angesetzt nur 2,18% Tryptophangehalt im Casein ergab.

Casein 1%: Gehalt an Tryptophan in 2 ccm = 0,42 mg = 0,021%. Bei der *Fürth-Lieben*-Reaktion wurden zur Farbentwicklung 4 Tropfen 0,05proz. Natriumnitritlösung angewandt.

Casein 2%: Gehalt an Tryptophan in 2 ccm = 0,84 mg = 0,042%. Bei der *Fürth-Lieben*-Reaktion wurden zur Farbentwicklung 8 Tropfen 0,05proz. Natriumnitritlösung angewandt.

6. *Tryptophanstandard.* 24,830 mg reines Tryptophan wurden in einem 50 ccm-Meßkolben in 50proz. Alkohol gelöst = 0,05proz. Lösung von Tryptophan. Die beiden Caseinstandardlösungen wurden regelmäßig gegen frischbereitete reine Tryptophanlösungen geprüft. Der Vergleich der Tryptophanlösung mit Caseinlösungen ergab nach *Fürth-Lieben* Werte, die von 0,76—0,84 mg Tryptophan in 2 ccm Casein (2%) schwankten und als Mittelwert 0,81 mg ergaben gleich 2,02% Tryptophangehalt im Casein.

Der Vergleich nach der *Tillmans*schen Methode ergab einen Mittelwert von 0,68 mg Tryptophan in 2 ccm = 1,7% Tryptophangehalt im Casein.

7. *Haltbarkeit der Caseinstandardlösung.* Es zeigte sich, daß beim Aufbewahren bei +1° und mit etwas Toluol die Lösungen innerhalb eines Monats kaum eine merkliche Tryptophanabnahme zeigten, dagegen sinkt beim Aufbewahren bei gewöhnlicher Temperatur mit Toluol der Tryptophangehalt einer 1proz. Caseinlösung von 0,021 auf 0,015 innerhalb eines Monats. Bei unseren Versuchen verwendeten wir Lösungen, die alle 3 Tage frisch bereitet wurden.

* Es läßt sich natürlich die Colorimetrie auch stufenphotometrisch durchführen; da aber die Lösungen so stark salzsauer sind, haben wir es vorgezogen, nur das *Dubosq*-Colorimeter zu verwenden, um das Stufenphotometer vor Schädigung von Salzsäuredämpfen zu bewahren.

II. Lösung der Organe.

Die größte Schwierigkeit ist sicher das Lösen des Organs ohne wesentliche Zerstörung des Tryptophans. Die Säurehydrolyse scheidet hier vollkommen aus, da das Tryptophan rasch unter Melanoidinbildung zerstört wird. Fermentative Verdauung eignet sich hier auch nicht, da nach *S. Fränkel* und *K. Gallia*[14] bei weitgehender Verdauung das Tryptophan erheblich geschädigt wird. Bei der alkalischen Lösung des Organs kommen 2 Möglichkeiten in Frage:

1. Lösung des Organs, so daß das Tryptophan im Eiweißverbande bleibt.
2. Schonende Alkalihydrolyse des Organeiweißes.

Da sich aber die Farbreaktionen vom Indolring des Tryptophans herleiten, so genügt eine vollständige Lösung des Organs in Alkalien, und eine längere Erwärmung bzw. Hydrolyse wirkt eher schädigend. Um ein für unsere Zwecke gut geeignetes Lösungsmittel zu finden, wiederholten wir die *Fürth*schen Versuche, und nach einer großen Anzahl eigener Versuche fanden wir folgendes:

1. Kritik der verschiedenen Lösungsmittel.

10% Bariumhydroxydlösung zu mild zur Lösung von Organen, deshalb langes Erwärmen mit freier Flamme nötig und somit wesentliche Schädigung des Tryptophans.

Höhere Konzentrationen von Bariumhydroxyd eignen sich wegen der relativen Schwerlöslichkeit des Bariumhydroxyds nicht sehr gut.

10proz. Kalilauge löst Organe besonders beim Erwärmen gut, aber nicht immer vollständig.

20proz. Kalilauge löst rasch und vollständig, besonders beim leichten Erwärmen auf dem Wasserbad ohne wesentliche Schädigung des Tryptophans.

30proz. Kalilauge wie oben, aber noch raschere Lösung, löst besonders gut beim Stehenlassen in der Kälte.

2. Versuche über die Beständigkeit des intraproteingebundenen Tryptophans gegen Alkali.

Es folgen nun einige Versuchsreihen, die geeignet sind, ein klares Bild über die obenerwähnten Lösungsverhältnisse zu geben: die in den Tabellen enthaltenen Zahlen sind Mittelwerte aus mindestens 3 Versuchsreihen.

1. 20proz. Kaliumhydroxyd: Je 2 g zerkleinerte Meerschweinchenleber wurden bei Zimmertemperatur einen Tag stehengelassen und dann verschieden lang auf dem Wasserbad mit der 5fachen Menge 20proz. Kalilauge erwärmt.

Auswertung nach Fürth-Lieben gegen 2% Caseinstandard.

Nr.	Einwaage g	Erwärmungszeit Stunden	Gesamttryptophan mg	Tryptophan, Frischgew. %	Bemerkungen
1	2,03	1/4	5,7	0,28	Lösung unvollständig
2	2,09	1/2	9,8	0,47	
3	2,09	1	10,3	0,51	
4	2,02	2	8,2	0,41	
5	2,09	4	8,5	0,41	
6	2,08	8	7,9	0,38	
7	2,00	12	5,4	0,27	Schädigung des Tryptophans
8	1,94	24	4,3	0,22	

2. *30proz. Kaliumhydroxyd:* a) etwa 2 g Meerschweinchenmuskel einen Tag bei Zimmertemperatur stehen gelassen und verschieden lang auf dem Wasserbad mit der 5fachen Menge 30proz. Kalilauge erwärmt.

Auswertung nach Fürth-Lieben gegen 2% Caseinstandard.

Nr.	Einwaage g	Erwärmungszeit Stunden	Gesamttryptophan mg	Tryptophan, Frischgew. %	Bemerkungen
1	2,0	1/2	10,4	0,52	
2	2,0	1	9,6	0,48	
3	1,60	3	5,3	0,33	Schädigung des Tryptophans
4	1,55	6	4,3	0,28	
5	1,90	9	5,2	0,27	
6	1,90	15	3,8	0,20	

b) Ansatz wie oben, aber an Stelle des Wasserbads wird mit freier Flamme erhitzt. Nr. 1 als Kontrolle auf dem Wasserbad erwärmt.

Auswertung nach Fürth-Lieben gegen 2% Caseinstandard.

Nr.	Einwaage g	Erwärmungszeit Stunden	Gesamttryptophan mg	Tryptophan, Frischgew. %	Bemerkungen
1	2,0	1 (WB.)	10,6	0,53	
2	2,0	1 1/2 (freie Fl.)	8,9	0,45	
3	2,0	3	7,7	0,38	starke Schädigung des Tryptophans
4	2,0	6	6,9	0,35	
5	2,0	9	5,4	0,27	
6	2,0	12	3,8	0,20	

Durch langdauernde Hydrolyse wird das Tryptophan aus dem Eiweißverbande herausgelöst und durch Alkalien rasch geschädigt. Die vorherigen Versuche wurden, um die Zerstörung des *freien* Tryptophans besser studieren zu können, mit je 5 mg chemisch reinem Tryptophan wiederholt. Mit 30proz. Kalilauge erfolgte auf dem Wasserbad starke Schädigung; mit 20proz. Kalilauge wurde bei kurzer Wärme-

einwirkung (1 Stunde Wasserbad) nur wenig zerstört. Diese Versuche bestätigen die Annahme von *Fürth* (l. c.) und *Onslow*[15] und anderer, daß das Tryptophan im Eiweißverbande und im Gemenge mit Eiweißhydrolysenprodukten weitaus widerstandsfähiger gegen Alkali ist als freies ungeschütztes Tryptophan.

3. Verarbeitung des Organmaterials.

Verwendet wurden *Jensen*-Sarkomratten mit 30—50 g großen Geschwülsten (etwa 3 Wochen nach der Sarkomimpfung). Die zu untersuchenden Organe, Leber, Niere, Herz, Muskel, Tumorgewebe und Tumornekrose, wurden sofort bindegewebefrei herauspräpariert (Gesamtgewicht ermittelt) und auf der eisgekühlten Glasplatte weiter verarbeitet. Das intakte Tumorgewebe wurde sorgfältig vom nekrotischen Teil getrennt. Um Vergleiche ziehen zu können, bestimmten wir noch den Tryptophangehalt der Leber, Niere, Herz und Muskel von Normalratten.

Von dem fein zerkleinerten Organ werden etwa 1—2 g abgewogen und mit der 5fachen Menge (Volumen) 20proz. Kalilauge versetzt; über Nacht stehengelassen und dann in kleinen mit Uhrgläsern bedeckten Erlenmeyer-Kölbchen 1—$1^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbad unter häufigem Umschütteln erwärmt. Die klare, gelb bis orange gefärbte Lösung wird quantitativ in einen graduierten Meßzylinder (25 ccm) übergeführt und auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Von dieser Lösung werden je 2 ccm mit einer Pipette entnommen und in einem graduierten Reagensglas mit den erforderlichen Lösungen nach *Fürth-Lieben* oder *Tillmans* versetzt. Während der Farbentwicklungszeit (10—15 Minuten bei *Fürth-Lieben*, $^3/_4$ Stunde bei *Tillmans*) läßt man den entstandenen Niederschlag von Kaliumchlorid bzw. Kaliumsulfat (aus der Kalilauge) absitzen und dekantiert in ein Zentrifugenglas und zentrifugiert gut aus. Man bringt die vollkommen klare gefärbte Lösung zur Auswertung ins *Dubosq*-Colorimeter (siehe Fußnote S. 202) gegen Caseinstandard. Bei der *Fürth-Lieben*-Bestimmung tritt oft ein gelblicher Farbton auf, der das Colorimetrieren erschwert und besonders bei fettreichen Geweben auftritt. Die Resultate bleiben aber trotzdem innerhalb der Fehlergrenzen, wie durch Versuche, bei denen die Gewebe vorher durch Ätherextraktion vollständig von Fetten befreit wurden, gezeigt werden konnte. Bei der Methode nach *Tillmans* scheint dieser Faktor eine noch größere Rolle zu spielen, so daß in fettreichen Geweben zu hohe Tryptophanwerte vorgetäuscht werden können (siehe untenstehende Versuche).

Es zeigt sich also, daß bei der Tryptophanbestimmung in Organen die *Fürth-Liebens*che Methode trotz der ihr anhaftenden Unzulänglichkeiten bei strikter Einhaltung der gleichen Bedingungen wesentlich

zuverlässigere Resultate gibt als die *Tillmans*sche Methode; allerdings gibt letztere bei reinen Eiweißkörpern und besonders bei reinen Tryptophanlösungen manchmal besser reproduzierbare Werte.

III. Der Tryptophangehalt in Rattenorganen.

Untersucht wurden Tumor (6 Stück) und Normalratten (6 Stück), und zwar nach beiden Methoden. Es wurden bei jedem Tier folgende Größen bestimmt:

1. Gesamtgewicht des Organs nach der Entnahme.
2. Trockengewicht des Organs, durch 24 Stunden langes Trocknen bei 110° bestimmt.
3. Gesamt-Stickstoffbestimmung, nach *Mikrokjeldahl* in 1 ccm bestimmt.
4. Tryptophanbestimmung nach *Fürth-Lieben* und nach *Tillmans*.

Um die Anordnung der Versuche zu erläutern, soll hier ein Beispiel aufgeführt werden:

Tumorratte.

Gewicht der Ratte 195 g. Tumor $3^1/_2$ Wochen alt mit schön lokalisierter Nekrose.

	Gesamtgewicht, Organ g	Trockengewicht %	N-Trockengewicht %	Tryptophan Frischgewicht %	Tryptophan Trockengewicht %	Tryptophan Gesamt-Stickstoff %
a) Auswertung nach Fürth-Lieben.						
Leber	7,52	28,0	9,32	0,38	1,36	2,03
Niere	1,09	26,0	10,85	0,45	1,68	2,13
Herz	0,5	21,7	13,15	0,36	1,64	1,72
Muskel	—	22,9	12,25	0,30	1,25	1,43
Tumor	20,9	17,3	12,10	0,20	1,14	1,29
Nekrose	—	15,0	13,75	0,20	1,27	1,55
b) Auswertung nach Tillmans.						
Leber	—	—	—	0,41	1,46	2,15
Muskel	—	—	—	0,32	1,41	1,59
Tumor	—	—	—	0,24	1,39	1,58
Nekrose	—	—	—	0,32	2,13	2,57

Normalratte.

a) Auswertung nach Fürth-Lieben.						
Leber	8,63	29,5	9,78	0,37	1,24	1,74
Niere	1,68	21,7	12,30	0,32	1,50	1,67
Herz	0,82	21,7	12,30	0,28	1,30	1,46
Muskel	—	23,6	10,50	0,28	1,17	1,55
b) Auswertung nach Tillmans.						
Leber	—	—	—	0,49	1,65	2,33
Niere	—	—	—	0,42	1,95	2,14
Muskel	—	—	—	0,32	1,35	1,75

Durchschnittswerte der Tryptophanbestimmungen in Rattenorganen

	Trocken-gewicht %	N-Trocken-gewicht %	Nach *Fürth-Lieben* Tryptophan Frisch-gewicht %	Trocken-gewicht %	Gesamt-Stickstoff %	Nach *Tillmans* Tryptophan Frisch-gewicht %	Trocken-gewicht %	Gesamt-Stickstoff %
			Tumorratten.					
Leber . . .	25,3	9,95	0,33	1,35	1,85	0,43	1,70	2,30
Niere . . .	23,3	10,55	0,40	1,70	2,15	0,48	2,15	2,80
Herz	21,7	13,80	0,40	1,80	1,80	—	—	—
Muskel . . .	21,8	12,50	0,26	1,20	1,35	0,31	1,45	1,60
Tumor . . .	19,1	11,30	0,20	1,05	1,25	0,28	1,45	1,80
Nekrose . .	15,6	11,85	0,21	1,35	1,70	0,33	2,10	2,35
			Normalratten.					
Leber . . .	27,9	9,80	0,33	1,20	1,65	0,42	1,50	2,15
Niere . . .	21,4	11,90	0,30	1,40	1,60	0,39	1,80	2,10
Herz	21,8	13,40	0,31	1,45	1,45	—	—	—
Muskel . . .	24,1	11,75	0,30	1,20	1,45	0,33	1,35	1,60

Zusammenfassung.

1. Es wurden die Eiweißkörper des intakten Sarkomgewebes und der Nekrose einer Analyse bezüglich des Tryptophangehaltes unterworfen, wobei sich in Übereinstimmung mit unseren früheren Befunden in bezug auf den Hexonbasengehalt, eine vollkommene Gleichheit des Tryptophangehaltes zwischen Tumor und Nekrose ergab. Der Tryptophangehalt der Organe der Sarkomratte ist ebenfalls gleich groß wie bei normalen Ratten.

2. Eine Überprüfung der proteolytischen Leistung der Leber der Ratte während der Entwicklung des Tumors zeigte in Übereinstimmung mit anderen Autoren eine starke Zunahme der Kathepsinaktivität.

Literaturverzeichnis.

[1] *Edlbacher, S.*, u. *W. Baumann*, Z. Krebsforsch. **44**, 441 (1936). — [2] *Edlbacher, S.*, u. *F. Koller*, Z. physiol. Chem. **227**, 99 (1934). — [3] *Edlbacher, S.*, u. *P. Jucker*, Z. physiol. Chem. **240**, 59 (1936). — [4] *Abderhalden, E.*, u. Mitarbeiter, Z. physiol. Chem. **238**, 169; **240**, 152 u. 237 (1936). — [5] *Luck, J. Murray*, J. of biol. Chem. **115**, 491 (1936). — [6] *Edlbacher, S.*, u. *M. Neber*, Z. physiol. Chem. **233**, 265 (1935). — [7] *Waldschmidt-Leitz, E.*, u. *K. Bartunek*, Z. physiol. Chem. **219**, 115 (1933); **233**, 36 (1935) u. a. — *Purr, A.*, Biochemic. J. **28**, 1907 (1934). — *Maschmann, E.*, u. *E. Helmert*, Z. physiol. Chem. **216**, 161; **218**, 142 (1933) — Z. Krebsforsch. **45**, 423 (1937). — [8] *Linderström-Lang, K.*, Z. physiol. Chem. **173**, 32; **174**, 275 (1928); **201**, 9 (1931). — [9] *v. Fürth, O.*, u. *E. Nobel*, Biochem. Z. **109**, 103 (1920). — *v. Fürth, O.*, u. *E. Lieben*, Biochem. Z. **109**, 123, 153 (1920). — *v. Fürth, O.*, u. *Z. Dische*, Biochem. Z. **146**, 275 (1924). — *v. Fürth, O., Kaunitz* u. *Scherf*, Biochem. Z. **272**, 88 (1934). — [10] *Tillmans, J.*, u. *A. Alt*, Biochem. Z. **164**, 135 (1925). — [11] *Rapoport, S.*, u. *W. Eichinger*, Biochem. Z. **289**, 288 (1937). — [12] *Rümele, Th.*, Z. anal. Chem. **84**, 88 (1931). — [13] *Böhm, F.*, u. *G. Grüner*, Biochem. Z. **282**, 230 (1935). — [14] *Fränkel, S.*, u. *K. Gallia*, Biochem. Z. **134**, 321 (1922). — [15] *Onslow, H.*, Biochem. Z. **15**, 283 (1901).

Curriculum vitae.

Ich, *Walter Baumann* von Basel, wurde als Sohn des Hermann Baumann, Ingenieur, und seiner Gattin Elvira, geb. Schmid, am 16. März 1911 in Basel geboren. Nach 4 Jahren Primarschule und 8 Jahren Untere und Obere Realschule in Basel erwarb ich im April 1929 das Maturitätszeugnis. Darauf begann ich meine Chemiestudien an der Anstalt für Anorganische Chemie unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Fr. Fichter und bestand im Juli 1933 das Vorexamen in anorganischer und analytischer Chemie. Von Anfang Wintersemester 1933/34 bis Ende Wintersemester 1934/35 arbeitete ich im organischen Laboratorium bei Herrn Prof. Dr. H. Rupe und legte im Juni 1936 das Vorexamen in organischer Chemie ab. Nach einem halbjährigen Unterbruch infolge Krankheit begann ich im Wintersemester 1935/36 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. S. Edlbacher die vorliegende Arbeit, die im Januar 1938 ihren Abschluß fand. Während der Studienzeit hatte ich, dank dem freundlichen Entgegenkommen der Firmen Metallwerke A.G., Dornach, Isola-Werke A.G., Breitenbach, und insbesondere van Baerle & Co., Münchenstein, die Gelegenheit, zusammen über ein Jahr lang mich praktisch weiterzubilden.

Während der Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Praktika folgender Herren Professoren und Dozenten: A. L. Bernoulli, Fr. Bürki, S. Edlbacher, H. Fischer, Fr. Fichter, M. Geiger-Huber, A. Hagenbach, A. Janner, Fr. Leuthart, A. Ostrowsky, A. Portmann, M. Reinhardt, E. Rothlin, P. Ruggli, H. Rupe, H. A. Schmid, G. Senn, H. Staub, H. Veillon, M. Wehrli, F. Zschokke.

Allen diesen Herren danke ich bestens für ihre Bemühungen. Der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät bin ich sehr zu Dank verpflichtet für die freundliche Erlaubnis, meine Dissertation in der Physiologisch-Chemischen Anstalt ausarbeiten zu können. Meinen besonderen Dank aber spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. S. Edlbacher, für die vielen wertvollen Ratschläge und Anregungen aus.